



5

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 22 MAI 2003

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr



26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 1/2

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 W / 260899

REMISE DES PLACES DATE 10 JUIL 2002 LIEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT 0208687 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE 10 JUIL 2002 PAR L'INPI		1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE BOUJU DERAMBURE BUGNION 52, RUE DE MONCEAU 75008 PARIS	
V s références pour ce dossier (facultatif) 10M486 12FR035/MBI			
C nfirmation d'un dépôt par télécopie <input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie			
2 NATURE DE LA DEMANDE		Cochez l'une des 4 cases suivantes	
Demande de brevet		<input checked="" type="checkbox"/>	
Demande de certificat d'utilité		<input type="checkbox"/>	
Demande divisionnaire		<input type="checkbox"/>	
<i>Demande de brevet initiale</i> N° _____ Date ____/____/____ <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i> N° _____ Date ____/____/____			
Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i> N° _____ Date ____/____/____			
3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) UNITE DE DELEUCOCYTATION SELECTIVE D'UN PRODUIT PLAQUETTAIRE			
4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
5 DEMANDEUR		<input type="checkbox"/> S'il y a d'autres demandeurs, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
Nom ou dénomination sociale		MACO PHARMA	
Prénoms			
Forme juridique		SOCIETE ANONYME	
N° SIREN		3 . 9 . 1 . 6 . 0 . 0 . 9 . 0 . 5	
Code APE-NAF		2 . 4 . 4 . C	
Adresse	Rue	RUE LORTHIOIS	
	Code postal et ville	59420	MOUVAUX
Pays		FRANCE	
Nationalité		FRANCAISE	
N° de téléphone (facultatif)			
N° de télécopie (facultatif)			
Adresse électronique (facultatif)			



BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 2/2

REMISE DES PIÈCES DATE 10 JUIL 2002 LIEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT 0203687 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI		Réservé à l'INPI	
V s références pour ce dossier : <i>(facultatif)</i>		10M486 12FR035/MBI	
6 MANDATAIRE			
Nom		SAYETTAT	
Prénom		Julien	
Cabinet ou Société		BOUJU DERAMBURE BUGNION	
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel			
Adresse	Rue	52 RUE DE MONCEAU	
	Code postal et ville	75008	PARIS
N° de téléphone <i>(facultatif)</i>		01 45 61 51 00	
N° de télécopie <i>(facultatif)</i>		01 45 61 96 30	
Adresse électronique <i>(facultatif)</i>		mail@bdsa.com	
7 INVENTEUR (S)			
Les inventeurs sont les demandeurs		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non Dans ce cas fournir une désignation d'inventeur(s) séparée	
8 RAPPORT DE RECHERCHE		Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)	
Établissement immédiat ou établissement différé		<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Paiement échelonné de la redevance		Paiement en deux versements, uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non	
9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES		Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention <i>(joindre un avis de non-imposition)</i> <input type="checkbox"/> Requête antérieurement à ce dépôt <i>(joindre une copie de la décision d'admission pour cette invention ou indiquer sa référence) :</i>	
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes			
10 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) Le Mandataire Julien SAYETTAT 02-0700		VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI MME BLANCANEUX	

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

L'invention concerne une unité de filtration destinée à permettre la déleucocytation sélective d'un fluide contenant des plaquettes sanguines, ainsi que des systèmes à poches comprenant une telle unité.

- 5 Elle s'applique typiquement à la filtration du sang ou d'un composant sanguin contenant des plaquettes tel qu'un plasma riche en plaquettes (PRP) ou un concentré plaquettaire (CP) ainsi qu'à la séparation et au recueil des composants sanguins, notamment en circuit clos.
- 10 Le sang total est un tissu constitué de deux types de composants : les cellules sanguines comprenant les globules rouges, les leucocytes et les plaquettes, et le plasma, liquide jaune pâle dans lequel les cellules sanguines sont en suspension.
- 15 Actuellement, on ne transfuse aux patients que les composants sanguins nécessaires à leur état. Par exemple, on ne transfuse que les concentrés plaquettaires aux patients atteints de thrombocytopénie, c'est-à-dire dont la teneur en plaquettes dans le sang est réduite.
- 20 Les composants sanguins sont habituellement séparés par deux types de centrifugation. La centrifugation dite douce du sang total conduit à le séparer en deux couches : une couche inférieure riche en globules rouges appelée concentré de globules rouges (CGR) ; et une couche supérieure contenant le plasma, les plaquettes et les leucocytes appelée plasma riche en plaquettes
- 25 (PRP). La centrifugation dite dure conduit à une séparation en trois couches : une couche inférieure de CGR ; une couche supérieure de plasma pauvre en plaquettes (PPP) ; et une couche intermédiaire formée essentiellement de leucocytes et de plaquettes, dénommée couche leuco-plaquettaire ou buffy coat. Le concentré plaquettaire (CP) est obtenu par centrifugation du PRP ou
- 30 de la couche leuco-plaquettaire.

Il s'est avéré que les leucocytes ont des effets indésirables très importants, ce qui a conduit à chercher à les éliminer des composants sanguins destinés à la

transfusion. En effet, les leucocytes augmentent les risques de rejet immunitaire tel que le GVHD (Graft Versus Host Disease) et favorisent la transmission d'agents infectieux. Il a aussi été montré que les leucocytes affectaient de façon négative la conservation des plaquettes.

5

On connaît déjà des unités de filtration comprenant un milieu de déleucocytation du sang total et/ou de chacun des composants sanguins. Cependant, la plupart de ces milieux retiennent les leucocytes mais également les plaquettes de sorte qu'ils ne permettent pas d'obtenir un filtrat formé d'un produit plaquettaire exempt de leucocyte.

10

Pour permettre l'élimination sélective des leucocytes et le passage des plaquettes, on a proposé plusieurs traitements chimiques et/ou physiques de milieux filtrants connus.

15

Par exemple, il a été envisagé de traiter le milieu filtrant par revêtement ou greffage par radiation de différentes substances chimiques de sorte à limiter l'adhésion des plaquettes sur le milieu filtrant. Ces traitements ont l'inconvénient d'utiliser des réactifs organiques qui peuvent se retrouver dans le sang ou le composant sanguin déleucocyté.

20

Par ailleurs, il a été envisagé, par exemple dans le document WO-93/04763, de traiter par plasma gazeux le milieu de filtration de sorte à diminuer la rétention des plaquettes. Toutefois, pour être efficace, ce type de traitement nécessite des conditions opératoires, notamment en terme de temps, qui sont particulièrement contraignantes.

25

Pour résoudre ces inconvénients, la demanderesse a effectué des essais intensifs et a sélectionné un milieu de déleucocytation formé d'un matériau à biocompatibilité améliorée, c'est-à-dire possédant des caractéristiques intrinsèques de non-rétention des plaquettes sanguines, ledit matériau étant sous forme d'au moins une couche de non-tissé de sorte à améliorer sa

30

transfusion. En effet, les leucocytes augmentent les risques de rejet immunitaire tel que le GVHD (Graft Versus Host Disease : rejet de la greffe par l'hôte) et favorisent la transmission d'agents infectieux. Il a aussi été montré que les leucocytes affectaient de façon négative la conservation des plaquettes.

5

On connaît déjà des unités de filtration comprenant un milieu de déleucocytation du sang total et/ou de chacun des composants sanguins. Cependant, la plupart de ces milieux retiennent les leucocytes mais également les plaquettes de sorte qu'ils ne permettent pas d'obtenir un filtrat formé d'un produit plaquettaire exempt de leucocyte.

10

Pour permettre l'élimination sélective des leucocytes et le passage des plaquettes, on a proposé plusieurs traitements chimiques et/ou physiques de milieux filtrants connus.

15

Par exemple, il a été envisagé de traiter le milieu filtrant par revêtement ou greffage par radiation de différentes substances chimiques de sorte à limiter l'adhésion des plaquettes sur le milieu filtrant. Ces traitements ont l'inconvénient d'utiliser des réactifs organiques qui peuvent se retrouver dans le sang ou le composant sanguin déleucocyté.

20

Par ailleurs, il a été envisagé, par exemple dans le document WO-93/04763, de traiter par plasma gazeux le milieu de filtration de sorte à diminuer la rétention des plaquettes. Toutefois, pour être efficace, ce type de traitement nécessite des conditions opératoires, notamment en terme de temps, qui sont particulièrement contraignantes.

25

Pour résoudre ces inconvénients, la demanderesse a effectué des essais intensifs et a sélectionné un milieu de déleucocytation formé d'un matériau à biocompatibilité améliorée, c'est-à-dire possédant des caractéristiques intrinsèques de non-rétention des plaquettes sanguines, ledit matériau étant sous forme d'au moins une couche de non-tissé de sorte à améliorer sa

30

capacité d'élimination des leucocytes et ledit milieu ayant été traité par plasma gazeux de sorte à améliorer son hydrophilie.

5 En particulier, l'unité de filtration incorporant un tel milieu de déleucocytation permet d'obtenir une perte en plaquettes inférieure à 20% et un taux de déleucocytation supérieur à 2 Log.

10 En outre, l'unité de filtration peut être incorporée dans des systèmes à poches permettant la filtration des fluides contenant des plaquettes, et éventuellement la séparation en circuit clos des différents composants sanguins.

15 A cet effet, et selon un premier aspect, l'invention propose une unité de filtration destinée à permettre la déleucocytation sélective d'un fluide contenant des plaquettes sanguines tel que le sang ou un composant sanguin, du type comprenant une enveloppe extérieure munie d'au moins un orifice d'entrée et d'au moins un orifice de sortie, l'enveloppe renfermant un élément poreux comprenant un milieu de déleucocytation par adsorption et/ou par filtration des leucocytes, ledit milieu étant formé d'au moins une couche de non-tissé à base de polyuréthane qui a été traitée par plasma gazeux.

20 Selon une réalisation, le milieu de déleucocytation comprend en outre au moins une membrane placée en aval dudit milieu.

25 Selon un second aspect, l'invention concerne un système à poches pour la déleucocytation sélective d'un fluide contenant des plaquettes sanguines, ledit système comprenant :

- une poche de collecte destinée à recevoir le fluide à filtrer, ladite poche étant reliée, par l'intermédiaire d'une tubulure et au niveau d'un orifice de sortie, à un orifice d'entrée d'une unité de filtration selon l'invention ; et
- 30 - une poche de recueil du filtrat, ladite poche étant reliée, par l'intermédiaire d'une tubulure et au niveau d'un orifice d'entrée, à un orifice de sortie de l'unité de filtration.

Selon une réalisation particulière, le système à poches est destiné à recueillir et à filtrer un fluide contenant des plaquettes, notamment un pool de couches leuco-plaquettaires ou de concentrés plaquettaires.

5 Selon une autre réalisation particulière, le système à poches est destiné à la séparation des composants sanguins du sang total et à la filtration d'un fluide contenant des plaquettes, notamment le PRP, en circuit clos.

10 D'autres objets et avantages de l'invention apparaîtront au cours de la description qui suit faite en référence aux dessins annexés.

La figure 1 représente en vue de face une unité de filtration selon un mode de réalisation de l'invention.

15 La figure 2 représente de façon schématique et en coupe longitudinale l'unité de filtration de la figure 1.

20 La figure 3 représente en vue schématique un système à poches pour la déleucocytation sélective d'un fluide contenant des plaquettes selon un mode de réalisation.

La figure 4 représente en vue schématique un système à poches pour la séparation des composants sanguins et la déleucocytation sélective d'un fluide contenant des plaquettes selon un mode de réalisation.

25 Sur les figures 1 et 2 est représentée une unité de filtration 1 destinée à permettre la déleucocytation sélective d'un fluide contenant des plaquettes et la récupération des plaquettes dans le fluide filtré.

30 Un fluide contenant des plaquettes peut être par exemple un sang total, un plasma riche en plaquettes (PRP), un buffy coat ou un concentré plaquettaire.

Selon une réalisation particulière, le système à poches est destiné à recueillir et à filtrer un fluide contenant des plaquettes, notamment un ensemble de couches leuco-plaquettaires ou de concentrés plaquettaires.

5 Selon une autre réalisation particulière, le système à poches est destiné à la séparation des composants sanguins du sang total et à la filtration d'un fluide contenant des plaquettes, notamment le PRP, en circuit clos.

10 D'autres objets et avantages de l'invention apparaîtront au cours de la description qui suit faite en référence aux dessins annexés.

La figure 1 représente en vue de face une unité de filtration selon un mode de réalisation de l'invention.

15 La figure 2 représente de façon schématique et en coupe longitudinale l'unité de filtration de la figure 1.

20 La figure 3 représente en vue schématique un système à poches pour la déleucocytation sélective d'un fluide contenant des plaquettes selon un mode de réalisation.

La figure 4 représente en vue schématique un système à poches pour la séparation des composants sanguins et la déleucocytation sélective d'un fluide contenant des plaquettes selon un mode de réalisation.

25 Sur les figures 1 et 2 est représentée une unité de filtration 1 destinée à permettre la déleucocytation sélective d'un fluide contenant des plaquettes et la récupération des plaquettes dans le fluide filtré.

30 Un fluide contenant des plaquettes peut être par exemple un sang total, un plasma riche en plaquettes (PRP), une couche leuco-plaquettaire ou un concentré plaquettaire.

Notamment, l'unité de filtration 1 est destinée à filtrer une unité de PRP, c'est-à-dire la quantité de PRP obtenue après centrifugation d'un don de sang total. L'unité de filtration peut aussi servir à filtrer un pool de buffy coat ou de concentrés plaquettaires (CP), c'est-à-dire la quantité de buffy coat ou de CP
5 obtenue après la réunion de deux à huit unités de buffy coat ou de CP issus d'un don de sang total.

Dans le mode de réalisation représenté sur les figures 1 et 2, l'unité de filtration 1 comprend une enveloppe extérieure 2 munie d'un orifice d'entrée 3 destiné à
10 recevoir le fluide à filtrer et d'un orifice de sortie 4 destiné à recueillir le filtrat, entre lesquels le fluide s'écoule suivant une direction D.

L'unité de filtration 1 comprend en outre un élément poreux 5 disposé dans l'enveloppe extérieure 2 de sorte à délimiter un compartiment d'entrée 6 en
15 communication avec l'orifice d'entrée 3 et un compartiment de sortie 7 en communication avec l'orifice de sortie 4.

Dans la description, les termes « amont » et « aval » sont définis par rapport au sens de circulation du fluide dans l'unité de filtration 1.

20

L'élément poreux 5 comprend un milieu de déleucocytation 8 capable d'éliminer par adsorption et/ou filtration les leucocytes présents dans un produit plaquettaire. Le milieu de déleucocytation 8 est capable de laisser passer les plaquettes, c'est-à-dire que les plaquettes n'adhèrent pas à la surface du milieu
25 de déleucocytation 8.

Le milieu de déleucocytation 8 est notamment multicouche, c'est-à-dire qu'il comprend plusieurs couches 9. Selon une réalisation, les couches 9 ont un diamètre moyen de pores qui décroît selon la direction de l'écoulement D de
30 sorte à créer un gradient de porosité.

Notamment, l'unité de filtration 1 est destinée à filtrer une unité de PRP, c'est-à-dire la quantité de PRP obtenue après centrifugation d'un don de sang total. L'unité de filtration peut aussi servir à filtrer un ensemble de couche leuco-plaquettaire ou de concentrés plaquettaires (CP), c'est-à-dire la quantité de couches leuco-plaquettaire ou de CP obtenue après la réunion de deux à huit unités de couche leuco-plaquettaire ou de CP issus d'un don de sang total.

Dans le mode de réalisation représenté sur les figures 1 et 2, l'unité de filtration 1 comprend une enveloppe extérieure 2 munie d'un orifice d'entrée 3 destiné à recevoir le fluide à filtrer et d'un orifice de sortie 4 destiné à recueillir le filtrat, entre lesquels le fluide s'écoule suivant une direction D.

L'unité de filtration 1 comprend en outre un élément poreux 5 disposé dans l'enveloppe extérieure 2 de sorte à délimiter un compartiment d'entrée 6 en communication avec l'orifice d'entrée 3 et un compartiment de sortie 7 en communication avec l'orifice de sortie 4.

Dans la description, les termes « amont » et « aval » sont définis par rapport au sens de circulation du fluide dans l'unité de filtration 1.

L'élément poreux 5 comprend un milieu de déleucocytation 8 capable d'éliminer par adsorption et/ou filtration les leucocytes présents dans un produit plaquettaire. Le milieu de déleucocytation 8 est capable de laisser passer les plaquettes, c'est-à-dire que les plaquettes n'adhèrent pas à la surface du milieu de déleucocytation 8.

Le milieu de déleucocytation 8 est notamment multicouche, c'est-à-dire qu'il comprend plusieurs couches 9. Selon une réalisation, les couches 9 ont un diamètre moyen de pores qui décroît selon la direction de l'écoulement D de sorte à créer un gradient de porosité.

Ce gradient de porosité permet d'améliorer la capacité de rétention des leucocytes présents dans le fluide contenant des plaquettes à filtrer en évitant le blocage ou le colmatage du milieu de déleucocytation 8.

- 5 Le gradient de porosité peut varier entre 3 et 15 μm , de façon continue ou de façon discrète.

10 La surface de filtration de l'élément poreux 5 dépend de la quantité de fluide contenant des plaquettes à filtrer et du type de filtration utilisée, c'est-à-dire par gravité ou sous pression. Lorsque le fluide à filtrer est un PRP, la surface de filtration du filtre est par exemple comprise entre 15 et 58 cm^2 , notamment 55 cm^2 . Lorsque le fluide à filtrer est constitué de une à quatre unités de concentrés plaquettaires, la surface de filtration peut être comprise entre 15 et 35 cm^2 , notamment 20 cm^2 .

15 Le milieu de déleucocytation 8 comprend au moins une couche formée d'un matériau non-tissé à base de polyuréthane.

20 Les couches de non-tissé de polyuréthane contenues dans l'unité de filtration 1 présentent l'avantage de posséder une biocompatibilité suffisante pour que les plaquettes n'adhèrent pas à celui-ci, et ce en présentant une capacité améliorée de rétention des leucocytes.

25 Les couches de non-tissé de polyuréthane sont traitées par plasma gazeux avant introduction dans l'unité de filtration 1. Ce traitement permet d'augmenter l'hydrophilie du milieu et donc l'amorçage de la filtration par simple gravité sans avoir recours à une filtration sous pression. Cependant, la filtration sous pression reste envisageable et permet d'augmenter la vitesse de filtration tout en limitant la perte en volume. Suivant l'invention, l'utilisation d'un revêtement polymérique ou copolymérique ou un greffage par radiation d'un polymère ou
30 copolymère pour éviter que les plaquettes n'adhèrent aux couches de non-tissé de polyuréthane, n'est donc pas nécessaire.

Le diamètre moyen des pores d'un non-tissé de polyuréthane varie entre 5 et 15 μm , notamment 7 et 15 μm . Le non-tissé de polyuréthane peut éventuellement subir une compression de type calandrage pour contrôler la taille de ses pores.

5

Selon une autre réalisation, le milieu de déleucocytation 8 comprend en outre au moins une membrane capable de retenir les leucocytes et de laisser passer les plaquettes. Par exemple, la membrane peut être réalisée à partir d'un matériau choisi parmi les polymères de fluorocarbonate tel que le PVDF, les

10 celluloses, les polyuréthanes, les polysulfones, les polyéthers sulfonés, le polycarbonate et notamment le copolymère polyvinylpyrrolidone/polysulfone (PVP/PSU).

15

Le copolymère PVP/PSU est notamment constitué de 5% de PVP et de 95% de PSU.

Le diamètre des pores de la membrane varie de 2 à 10 μm . La membrane est placée en aval des couches de polyuréthane non-tissé.

20

La nature et les propriétés physico-chimiques de la membrane utilisée peuvent être telles que la membrane ne nécessite aucun traitement chimique et/ou physique afin d'augmenter son hydrophilie. La membrane assure une filtration dite écran, c'est-à-dire que ses pores sont calibrés pour laisser passer les plaquettes tout en retenant les leucocytes.

25

Dans la réalisation particulière représentée sur les figures 1 et 2, l'enveloppe extérieure 2 est souple et formée par l'assemblage de deux feuilles 11, 12 de matière plastique souple assemblées mutuellement, par exemple, par soudage sur leur périphérie.

30

L'élément poreux 5 est maintenu dans l'enveloppe extérieure 2 par des moyens d'association étanches déformables qui sont formés d'un cadre souple 13.

Le diamètre moyen des pores d'un non-tissé de polyuréthane varie entre 5 et 15 μm , notamment 7 et 15 μm . Le non-tissé de polyuréthane peut éventuellement subir une compression de type calandrage pour contrôler la taille de ses pores.

5

Selon une autre réalisation, le milieu de déleucocytation 8 comprend en outre au moins une membrane capable de retenir les leucocytes et de laisser passer les plaquettes. Par exemple, la membrane peut être réalisée à partir d'un matériau choisi parmi les polymères de polymères fluorocarbonés tel que le PVDF, les celluloses, les polyuréthanes, les polysulfones, les polyéthers sulfonés, le polycarbonate et notamment le copolymère polyvinylpyrrolidone/polysulfone (PVP/PSU).

10

Le copolymère PVP/PSU est notamment constitué de 5% de PVP et de 95% de PSU.

15

Le diamètre des pores de la membrane varie de 2 à 10 μm . La membrane est placée en aval des couches de polyuréthane non-tissé.

La nature et les propriétés physico-chimiques de la membrane utilisée peuvent être telles que la membrane ne nécessite aucun traitement chimique et/ou physique afin d'augmenter son hydrophilie. La membrane assure une filtration dite écran, c'est-à-dire que ses pores sont calibrés pour laisser passer les plaquettes tout en retenant les leucocytes.

20

Dans la réalisation particulière représentée sur les figures 1 et 2, l'enveloppe extérieure 2 est souple et formée par l'assemblage de deux feuilles 11, 12 de matière plastique souple assemblées mutuellement, par exemple, par soudage sur leur périphérie.

25

L'élément poreux 5 est maintenu dans l'enveloppe extérieure 2 par des moyens d'association étanches déformables qui sont formés d'un cadre souple 13.

30



Le cadre souple 13 est formé par un assemblage de deux feuilles 13a et 13b, par exemple plastifiées, entre lesquelles est placé l'élément poreux 5.

5 Ces deux feuilles 13a, 13b sont ajourées dans leur partie centrale et comportent chacune au moins une ouverture 14 permettant le passage du fluide à filtrer.

10 Les deux feuilles 13a, 13b sont fixées entre elles de préférence au niveau de la périphérie de l'élément poreux 5, par exemple par un cordon de soudure 15, réalisé au travers l'élément poreux 5, assurant à la fois la fixation de l'élément poreux 5 mais également l'étanchéité.

15 La soudure des feuilles 13a, 13b à travers l'élément poreux 5 provoque une compression, formant un cordon étanche autour de l'élément poreux 5.

Le cadre souple 13 est soudé sur sa périphérie avec les feuilles 11 et 12 formant l'enveloppe extérieure 2, mutuellement sur tout leur pourtour et au niveau de leur périphérie, assurant ainsi l'étanchéité.

20 Lors de ce soudage, l'orifice d'entrée 3, formé d'une portion de tubulure, est disposé d'un côté du cadre souple 13 et l'orifice de sortie 4, formé d'une autre portion de tubulure, est disposé de l'autre côté du cadre souple 13.

25 Pour éviter que l'élément poreux ne se colle contre l'enveloppe extérieure 2 et gêne ainsi l'écoulement du fluide, deux joncs d'écartement 16,17 sont placés à l'intérieur du compartiment de sortie 7, entre l'élément poreux 5 et l'enveloppe extérieure 2.

30 Les joncs peuvent être réalisés à partir de tubulures souples soudées par exemple au niveau de la paroi intérieure de la feuille de l'enveloppe extérieure 2, par exemple au niveau de la soudure périphérique.

Il va de soi que le nombre de joncs d'écartement 16,17 peut varier en fonction par exemple des dimensions de l'unité de filtration 1.

5 Dans un autre mode de réalisation (non représenté), l'enveloppe extérieure est rigide, par exemple réalisée en matériau plastique rigide tel que le polycarbonate.

10 Comme il est décrit ci dessus en relation avec les figures 1 et 2, l'élément poreux 5 est maintenu dans un cadre souple 13 au moyen d'un cordon de soudure 15. Afin de permettre la soudure de l'élément poreux avec les feuilles 13a,13b formant le cadre souple 13, les matériaux de l'élément poreux en contact avec le cadre souple 13 doivent être soudables.

15 L'élément poreux 5 peut comprendre un pré-filtre 10 en amont du milieu de déleucocytation 8 afin d'éliminer les particules de type gel ou micro-agrégats, les gros leucocytes et de prévenir le colmatage du milieu de déleucocytation 8. En outre, il peut également comprendre un post-filtre 18 prévu en aval du milieu de déleucocytation 8.

20 Le pré-filtre 10 et/ou le post-filtre 18 est formé d'un matériau choisi parmi le polyester, le polypropylène, le polyéthylène ou le polyuréthane, sous forme d'un tissé, d'un tricot ou d'un non-tissé, avec une taille de pores suffisante pour éviter la rétention des plaquettes.

25 On décrit maintenant en relation avec les figures 3 et 4, deux modes de réalisation d'un système à poches pour la déleucocytation d'un fluide contenant des plaquettes qui comprend une poche 19 destinée à recueillir le filtrat, reliée par l'intermédiaire d'une première tubulure 20 et au niveau de l'orifice d'entrée 21 de ladite poche 19, à un orifice de sortie 4 de l'unité de filtration.

30

La poche 19 destinée à recueillir le filtrat est souple et comprend un matériau biocompatible ayant une perméabilité suffisante pour maintenir les plaquettes viables pendant leur conservation. Ladite poche 19 est réalisée notamment en

PVC plastifié par du trimellitate de tri 2-éthylhexyle ou en éthylène-acétate de vinyle (EVA).

5 Dans la description ci-dessus, les tubulures sont notamment souples, soudables et sécables et les liaisons entre les différents éléments des systèmes à poches sont fixes et étanches.

10 En relation avec la figure 3 et pour la filtration au travers de la même unité de filtration 1 d'un pool de buffy coat, respectivement de concentrés plaquettaires, une poche 22 destinée à contenir le fluide à filtrer est reliée par l'intermédiaire d'une deuxième tubulure 23 et au niveau de l'orifice de sortie 24 de ladite poche 22, à un orifice d'entrée 3 de l'unité de filtration 1.

15 Le système comprend en outre des moyens de connexion 25 connectés, par l'intermédiaire d'une troisième tubulure 26, à un orifice d'entrée 27 de la poche 22 destinée à contenir le fluide à filtrer.

20 Les moyens de connexion 25 sont destinés à connecter une ou plusieurs poches (non représentées) contenant des unités de buffy coat, respectivement de concentrés plaquettaires, et éventuellement une ou plusieurs poches contenant une solution de conservation des plaquettes.

25 De telles solutions de conservation des plaquettes sont disponibles sur le marché. Une solution de conservation des plaquettes particulière comprend 2,94 g de citrate de sodium $2H_2O$, 4,08 g d'acétate de sodium $3H_2O$, 6,75 g de chlorure de sodium dans 100 mL d'eau ppi, à un pH 7,2.

Les moyens de connexions sont par exemple des perforateurs ou des joncs pour connexion stérile.

30 Dans un mode particulier de mise en œuvre du système représenté sur la figure 3, sept poches contenant chacune une unité de buffy coat sont mises en communication fluidique par l'intermédiaire des moyens de connexions 25, avec

PVC plastifié par du trimellitate de tri 2-éthylhexyle ou en éthylène-acétate de vinyle (EVA).

5 Dans la description ci-dessus, les tubulures sont notamment souples, soudables et sécables et les liaisons entre les différents éléments des systèmes à poches sont fixes et étanches.

10 En relation avec la figure 3 et pour la filtration au travers de la même unité de filtration 1 d'un ensemble de couche leuco-plaquettaire, respectivement de concentrés plaquettaires, une poche 22 destinée à contenir le fluide à filtrer est reliée par l'intermédiaire d'une deuxième tubulure 23 et au niveau de l'orifice de sortie 24 de ladite poche 22, à un orifice d'entrée 3 de l'unité de filtration 1.

15 Le système comprend en outre des moyens de connexion 25 connectés, par l'intermédiaire d'une troisième tubulure 26, à un orifice d'entrée 27 de la poche 22 destinée à contenir le fluide à filtrer.

20 Les moyens de connexion 25 sont destinés à connecter une ou plusieurs poches (non représentées) contenant des unités de couche leuco-plaquettaire, respectivement de concentrés plaquettaires, et éventuellement une ou plusieurs poches contenant une solution de conservation des plaquettes.

25 De telles solutions de conservation des plaquettes sont disponibles sur le marché. Une solution de conservation des plaquettes particulière comprend 2,94 g de citrate de sodium $2H_2O$, 4,08 g d'acétate de sodium $3H_2O$, 6,75 g de chlorure de sodium dans 100 mL d'eau ppi, à un pH 7,2.

Les moyens de connexions sont par exemple des perforateurs ou des joncs pour connexion stérile.

30

Dans un mode particulier de mise en œuvre du système représenté sur la figure 3, sept poches contenant chacune une unité de couche leuco-plaquettaire sont mises en communication fluidique par l'intermédiaire des moyens de

la poche 22 destinée à contenir le fluide à filtrer. Le système à poches est ensuite placé dans une centrifugeuse de façon à ce que l'orifice de sortie 24 de ladite poche 22 soit dirigé vers le haut. Ladite poche 22 est ensuite centrifugée de façon à obtenir d'une part les plaquettes en surnageant et d'autre part les leucocytes et les globules rouges dans le culot. Le surnageant est enfin envoyé par l'orifice de sortie 24 de ladite poche 22 vers la poche 19 destinée à recevoir le filtrat par l'intermédiaire de l'unité de filtration 1. On récupère ainsi des concentrés plaquettaires déleucocytés dans la poche 19 de recueil du filtrat.

Dans un autre mode particulier de mise en œuvre du système représenté sur la figure 3, six poches contenant chacune une unité de concentré plaquettaire et une septième poche contenant une solution de conservation des plaquettes sont mises en communication fluide par l'intermédiaire des moyens de connexion 25, avec la poche 22 destinée à contenir le fluide à filtrer. Le mélange concentrés plaquettaires et solution de conservation des plaquettes est ensuite envoyé par l'orifice de sortie 24 de ladite poche 22 vers la poche 19 destinée à recevoir le filtrat par l'intermédiaire de l'unité de filtration 1. On récupère ainsi des concentrés plaquettaires déleucocytés dans la poche 19 de recueil du filtrat.

Dans un autre mode de réalisation (non représenté), les moyens de connexions 25 sont directement reliés par l'intermédiaire de la deuxième tubulure 23 à l'orifice d'entrée 3 de l'unité de filtration 1. Dans ce cas, on connecte directement des concentrés plaquettaires obtenus par centrifugation de buffy coat.

On décrit maintenant en relation avec la figure 4 un autre mode de réalisation d'un système à poches selon l'invention pour la séparation des composants sanguins et la déleucocytation d'un PRP en circuit clos.

Outre l'unité de filtration et la poche 19 destinée à recueillir le filtrat, le système à poches comprend une poche de collecte 28 contenant un anticoagulant de type ACD ou CPD, reliée par l'intermédiaire d'une quatrième tubulure 29, à

connexions 25, avec la poche 22 destinée à contenir le fluide à filtrer. Le système à poches est ensuite placé dans une centrifugeuse de façon à ce que l'orifice de sortie 24 de ladite poche 22 soit dirigé vers le haut. Ladite poche 22 est ensuite centrifugée de façon à obtenir d'une part les plaquettes en surnageant et d'autre part les leucocytes et les globules rouges dans le culot. Le surnageant est enfin envoyé par l'orifice de sortie 24 de ladite poche 22 vers la poche 19 destinée à recevoir le filtrat par l'intermédiaire de l'unité de filtration 1. On récupère ainsi des concentrés plaquettaires déleucocytés dans la poche 19 de recueil du filtrat.

10

Dans un autre mode particulier de mise en œuvre du système représenté sur la figure 3, six poches contenant chacune une unité de concentré plaquettaire et une septième poche contenant une solution de conservation des plaquettes sont mises en communication fluide par l'intermédiaire des moyens de connexion 25, avec la poche 22 destinée à contenir le fluide à filtrer. Le mélange concentrés plaquettaires et solution de conservation des plaquettes est ensuite envoyé par l'orifice de sortie 24 de ladite poche 22 vers la poche 19 destinée à recevoir le filtrat par l'intermédiaire de l'unité de filtration 1. On récupère ainsi des concentrés plaquettaires déleucocytés dans la poche 19 de recueil du filtrat.

20

Dans un autre mode de réalisation (non représenté), les moyens de connexions 25 sont directement reliés par l'intermédiaire de la deuxième tubulure 23 à l'orifice d'entrée 3 de l'unité de filtration 1. Dans ce cas, on connecte directement des concentrés plaquettaires obtenus par centrifugation de couche leuco-plaquettaire.

25

On décrit maintenant en relation avec la figure 4 un autre mode de réalisation d'un système à poches selon l'invention pour la séparation des composants sanguins et la déleucocytation d'un PRP en circuit clos.

30

Outre l'unité de filtration et la poche 19 destinée à recueillir le filtrat, le système à poches comprend une poche de collecte 28 contenant un anticoagulant de



l'orifice de sortie 30 de l'unité de filtration 1 et un dispositif de prélèvement du sang 31 relié par l'intermédiaire d'une cinquième tubulure 32 à un orifice d'entrée 33 de la poche de collecte 28.

5 De plus, le système comprend au moins une poche satellite 34 contenant une solution de conservation des globules rouges de type SAGM reliée au moyen d'une sixième tubulure 35 à un second orifice de sortie 36 de la poche de collecte 22.

10 La tubulure 35 peut comprendre une unité de filtration 37 destinée à éliminer les leucocytes des globules rouges.

Eventuellement, une poche de recueil du plasma 38 est en communication
fluidique avec la poche de recueil du filtrat 19, au moyen d'une septième
15 tubulure 39 par l'intermédiaire d'un connecteur 40 à la première tubulure 20.

Dans un mode particulier non représenté, le système comprend également une
poche contenant une solution de conservation des plaquettes en
communication fluidique avec la poche de recueil du filtrat 19.

20

Selon un mode particulier de mise en œuvre du système selon la figure 4, le
sang total est prélevé au moyen du dispositif de prélèvement 31 dans la poche
de collecte 28. Le système dans son ensemble est ensuite centrifugé de façon
à obtenir dans la poche de collecte 28 une couche inférieure de concentré de
25 globules rouges et une couche supérieure de PRP. Le PRP est envoyé dans la
poche 19 de recueil du filtrat par l'intermédiaire de l'unité de filtration 1. Le
concentré de globules rouges reste dans la poche de collecte 28 est envoyé
dans la poche satellite 34 par l'intermédiaire du filtre 37 à déleucocyter les
globules rouges. La tubulure 20 est ensuite scellée et coupée afin de séparer
30 les poches 19 de recueil du filtrat et 38 de recueil du plasma du reste du
système. Après centrifugation, on obtient une couche supérieure de plasma qui
est envoyée dans la poche de recueil du plasma 38, et une couche inférieure
de concentré plaquettaire.

type ACD ou CPD, reliée par l'intermédiaire d'une quatrième tubulure 29, à l'orifice de sortie 30 de l'unité de filtration 1 et un dispositif de prélèvement du sang 31 relié par l'intermédiaire d'une cinquième tubulure 32 à un orifice d'entrée 33 de la poche de collecte 28.

5

De plus, le système comprend au moins une poche satellite 34 contenant une solution de conservation des globules rouges de type SAGM reliée au moyen d'une sixième tubulure 35 à un second orifice de sortie 36 de la poche de collecte 22.

10

La tubulure 35 peut comprendre une unité de filtration 37 destinée à éliminer les leucocytes des globules rouges.

15

Eventuellement, une poche de recueil du plasma 38 est en communication fluide avec la poche de recueil du filtrat 19, au moyen d'une septième tubulure 39 par l'intermédiaire d'un connecteur 40 à la première tubulure 20.

20

Dans un mode particulier non représenté, le système comprend également une poche contenant une solution de conservation des plaquettes en communication fluide avec la poche de recueil du filtrat 19.

25

Selon un mode particulier de mise en œuvre du système selon la figure 4, le sang total est prélevé au moyen du dispositif de prélèvement 31 dans la poche de collecte 28. Le système dans son ensemble est ensuite centrifugé de façon à obtenir dans la poche de collecte 28 une couche inférieure de concentré de globules rouges et une couche supérieure de PRP. Le PRP est envoyé dans la poche 19 de recueil du filtrat par l'intermédiaire de l'unité de filtration 1. Le concentré de globules rouges reste dans la poche de collecte 28 est envoyé dans la poche satellite 34 par l'intermédiaire du filtre 37 à déleucocyter les globules rouges. La tubulure 20 est ensuite scellée et coupée afin de séparer les poches 19 de recueil du filtrat et 38 de recueil du plasma du reste du système. Après centrifugation, on obtient une couche supérieure de plasma qui

30



On donne ci-dessous deux exemples de réalisation d'une unité de filtration sélective suivant l'invention.

5 Exemple 1

Une unité de filtration 1 telle que représentée sur les figures 1 et 2 comprenant un élément poreux 5 constitué de :

- 10 - une couche de non-tissé de polyester ayant une porosité moyenne de 35 μm ,
- quatre couches de non-tissé de polyuréthane de taille moyenne de pores égale à 13,6 μm ,
- cinq couches de membrane de PVP/PSU de porosité moyenne comprise entre 4,5 μm et 5,5 μm , et
- 15 - une couche de non-tissé de polyester ayant une porosité moyenne de 35 μm .

Le non-tissé de polyuréthane est traité au plasma gazeux couche par couche dans les conditions opératoires suivantes :

- 20 - Puissance : 1000 Watts ;
- Radiofréquence : 13,56 MHz ;
- Temps de traitement : 30 secondes ;
- Pression : 200 à 220 millitores ;
- Débit de O_2 : 1 à 2 litres par minute.

25

La surface de filtration est de 20 cm^2 .

On forme un pool de concentrés plaquettaires dans la poche 22 d'un système à poches tel que représenté sur la figure 3, puis on fait passer le pool dans l'unité
30 de filtration 1 décrite ci-dessus.

La perte en plaquettes mesurée est inférieure à 15% et le taux de déplétion en leucocytes est supérieur à 2 log.

est envoyée dans la poche de recueil du plasma 38, et une couche inférieure de concentré plaquettaire.

5 On donne ci-dessous deux exemples de réalisation d'une unité de filtration sélective suivant l'invention.

Exemple 1

10 Une unité de filtration 1 telle que représentée sur les figures 1 et 2 comprenant un élément poreux 5 constitué de :

- une couche de non-tissé de polyester ayant une porosité moyenne de 35 μm ,
- quatre couches de non-tissé de polyuréthane de taille moyenne de pores égale à 13,6 μm ,
- 15 - cinq couches de membrane de PVP/PSU de porosité moyenne comprise entre 4,5 μm et 5,5 μm , et
- une couche de non-tissé de polyester ayant une porosité moyenne de 35 μm .

20 Le non-tissé de polyuréthane est traité au plasma gazeux couche par couche dans les conditions opératoires suivantes :

- Puissance : 1000 Watts ;
- Radiofréquence : 13,56 MHz ;
- Temps de traitement : 30 secondes ;
- 25 - Pression : 200 à 220 millitores ;
- Débit de O_2 : 1 à 2 litres par minute.

La surface de filtration est de 20 cm^2 .

30 On forme un ensemble de concentrés plaquettaires dans la poche 22 d'un système à poches tel que représenté sur la figure 3, puis on fait passer l'ensemble dans l'unité de filtration 1 décrite ci-dessus.

Exemple 2

Une unité de filtration 1 telle que représentée sur les figures 1 et 2 comprenant un élément poreux 5 constitué de :

- une couche de non-tissé de polyester ayant une porosité moyenne de 35 μm ,
- dix couches de non-tissé de polyuréthane de taille moyenne de pores égale à 8 μm ,
- une couche de non-tissé de polyester ayant une porosité moyenne de 35 μm .

Le traitement au plasma est réalisé dans les mêmes conditions opératoires que dans l'exemple 1 et les résultats obtenus sont analogues.

La perte en plaquettes mesurée est inférieure à 15% et le taux de déplétion en leucocytes est supérieur à 2 log.

Exemple 2

5

Une unité de filtration 1 telle que représentée sur les figures 1 et 2 comprenant un élément poreux 5 constitué de :

- une couche de non-tissé de polyester ayant une porosité moyenne de 35 μm ,
- 10 - dix couches de non-tissé de polyuréthane de taille moyenne de pores égale à 8 μm ,
- une couche de non-tissé de polyester ayant une porosité moyenne de 35 μm .

15

Le traitement au plasma est réalisé dans les mêmes conditions opératoires que dans l'exemple 1 et les résultats obtenus sont analogues.



REVENDICATIONS

1. Unité de filtration (1) destinée à permettre la déleucocytation sélective d'un fluide contenant des plaquettes sanguines tel que le sang ou un composant sanguin, du type comprenant une enveloppe extérieure (2) munie d'au moins un orifice d'entrée (3) et d'au moins un orifice de sortie (4), l'enveloppe (2) renfermant un élément poreux (5) comprenant un milieu de déleucocytation (8) par adsorption et/ou par filtration des leucocytes, caractérisée en ce que ledit milieu est formé d'au moins une couche (9) de non-tissé à base de polyuréthane qui a été traitée par plasma gazeux.
2. Unité de filtration selon la revendication 1, caractérisée en ce que le diamètre moyen des pores de la ou des couche(s) (9) de non-tissé est compris entre 6 et 15 μm .
3. Unité de filtration selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que le milieu de déleucocytation (8) comprend plusieurs couches (9) empilées qui présentent une porosité décroissante de façon continue ou de façon discrète dans le sens d'écoulement (D) du fluide.
4. Unité de filtration selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que le milieu de déleucocytation (8) comprend en outre au moins une membrane placée en aval dudit milieu.
5. Unité de filtration selon la revendication 4, caractérisée en ce que la ou les membrane(s) est(sont) formées à base d'un matériau choisi dans le groupe comprenant les polymères de fluorocarbonate, les dérivés de cellulose, les polyuréthanes, les polysulfones, les polyéthers sulfonés, le polycarbonate.
6. Unité de filtration selon la revendication 5, caractérisée en ce que la ou les membrane(s) est(sont) formée(s) à base d'un copolymère de polyvinylpyrrolidone/polysulfone.

REVENDICATIONS

1. Unité de filtration (1) destinée à permettre la déleucocytation sélective d'un fluide contenant des plaquettes sanguines tel que le sang ou un composant sanguin, du type comprenant une enveloppe extérieure (2) munie d'au moins un orifice d'entrée (3) et d'au moins un orifice de sortie (4), l'enveloppe (2) renfermant un élément poreux (5) comprenant un milieu de déleucocytation (8) par adsorption et/ou par filtration des leucocytes, caractérisée en ce que ledit milieu est formé d'au moins une couche (9) de non-tissé à base de polyuréthane qui a été traitée par plasma gazeux.
2. Unité de filtration selon la revendication 1, caractérisée en ce que le diamètre moyen des pores de la ou des couche(s) (9) de non-tissé est compris entre 5 et 15 μm .
3. Unité de filtration selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que le milieu de déleucocytation (8) comprend plusieurs couches (9) empilées qui présentent une porosité décroissante de façon continue ou de façon discrète dans le sens d'écoulement (D) du fluide.
4. Unité de filtration selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que le milieu de déleucocytation (8) comprend en outre au moins une membrane placée en aval dudit milieu.
5. Unité de filtration selon la revendication 4, caractérisée en ce que la ou les membrane(s) est(sont) formées à base d'un matériau choisi dans le groupe comprenant les polymères de polymères fluorocarbonés, les dérivés de cellulose, les polyuréthanes, les polysulfones, les polyéthers sulfonés, le polycarbonate.
6. Unité de filtration selon la revendication 5, caractérisée en ce que la ou les membrane(s) est(sont) formée(s) à base d'un copolymère de polyvinylpyrrolidone/polysulfone.



7. Unité de filtration selon l'une quelconque des revendications 4 à 6, caractérisée en ce que la ou les membrane(s) présente(nt) un diamètre de pores compris entre 2 et 10 μm .

5 8. Unité de filtration selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que l'élément poreux (5) comprend en outre un pré-filtre (10) et/ou un post-filtre (18) qui sont réalisés sous la forme d'au moins une couche de non-tissé et qui sont disposés respectivement coté aval et coté amont du milieu de déleucocytation (8).

10

9. Système à poches pour la déleucocytation sélective d'un fluide contenant des plaquettes sanguines, caractérisé en ce qu'il comprend :

- une poche de collecte (28, 22) destinée à recevoir le fluide à filtrer, ladite poche étant reliée, par l'intermédiaire d'une tubulure et au niveau d'un orifice de sortie, à un orifice d'entrée (3) d'une unité de filtration (1) selon l'une
15 quelconque des revendications 1 à 8 ; et
- une poche de recueil (19) du filtrat, ladite poche étant reliée, par l'intermédiaire d'une tubulure et au niveau d'un orifice d'entrée, à un orifice de sortie (4) de l'unité de filtration (1).

20

10. Système à poches selon la revendication 9, caractérisé en ce qu'il comprend en outre une deuxième poche de recueil (34) qui est reliée à un orifice de sortie de la poche de collecte (28) par l'intermédiaire d'un filtre à déleucocyter (37) au moins un composant du fluide.

25

1/3

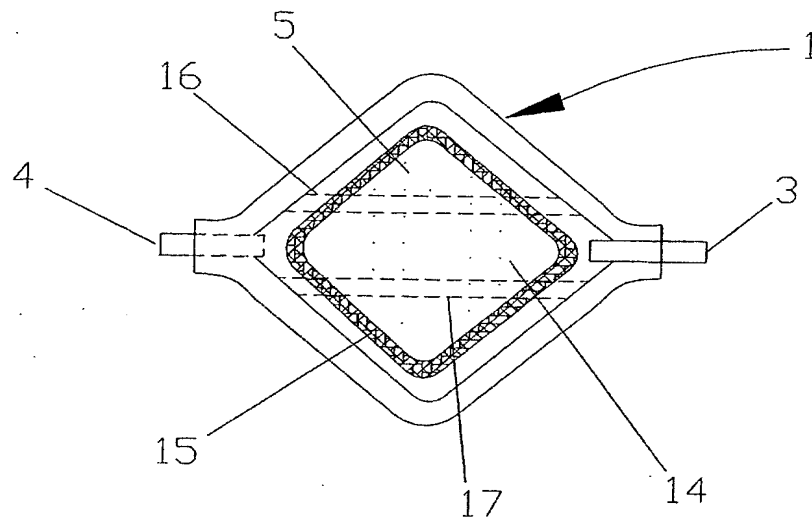


Fig. 1

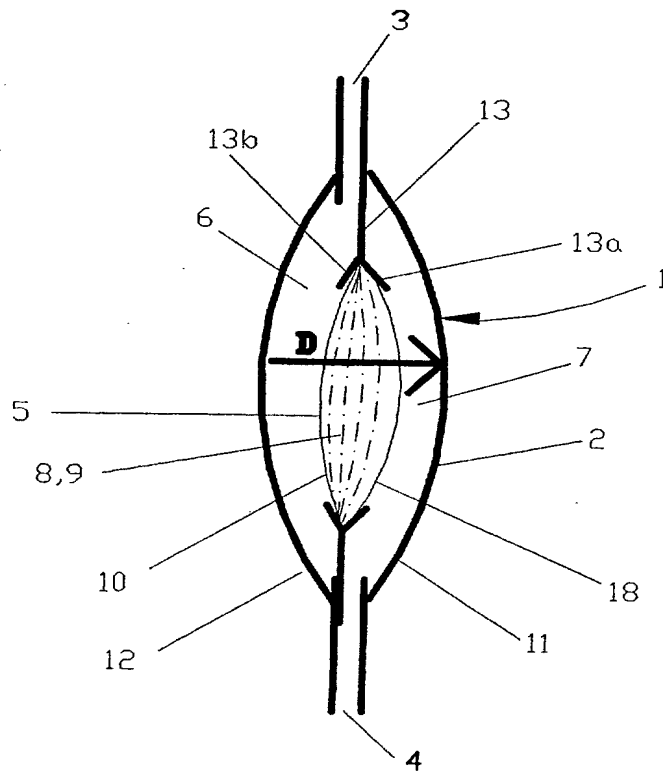
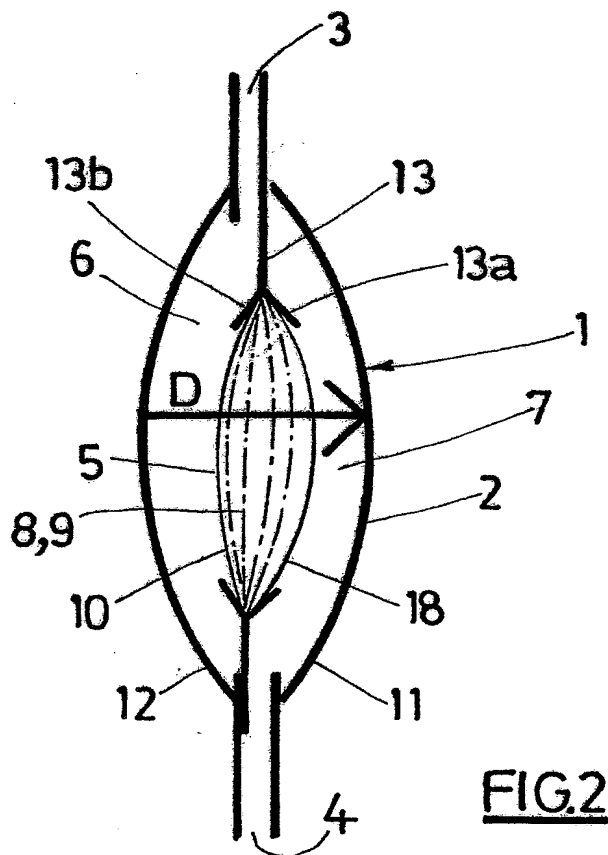
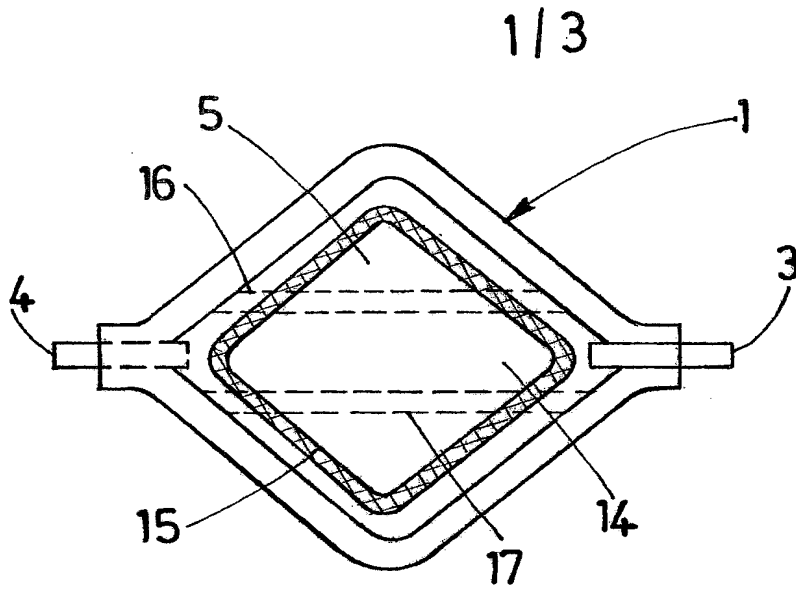


Fig. 2



2/3

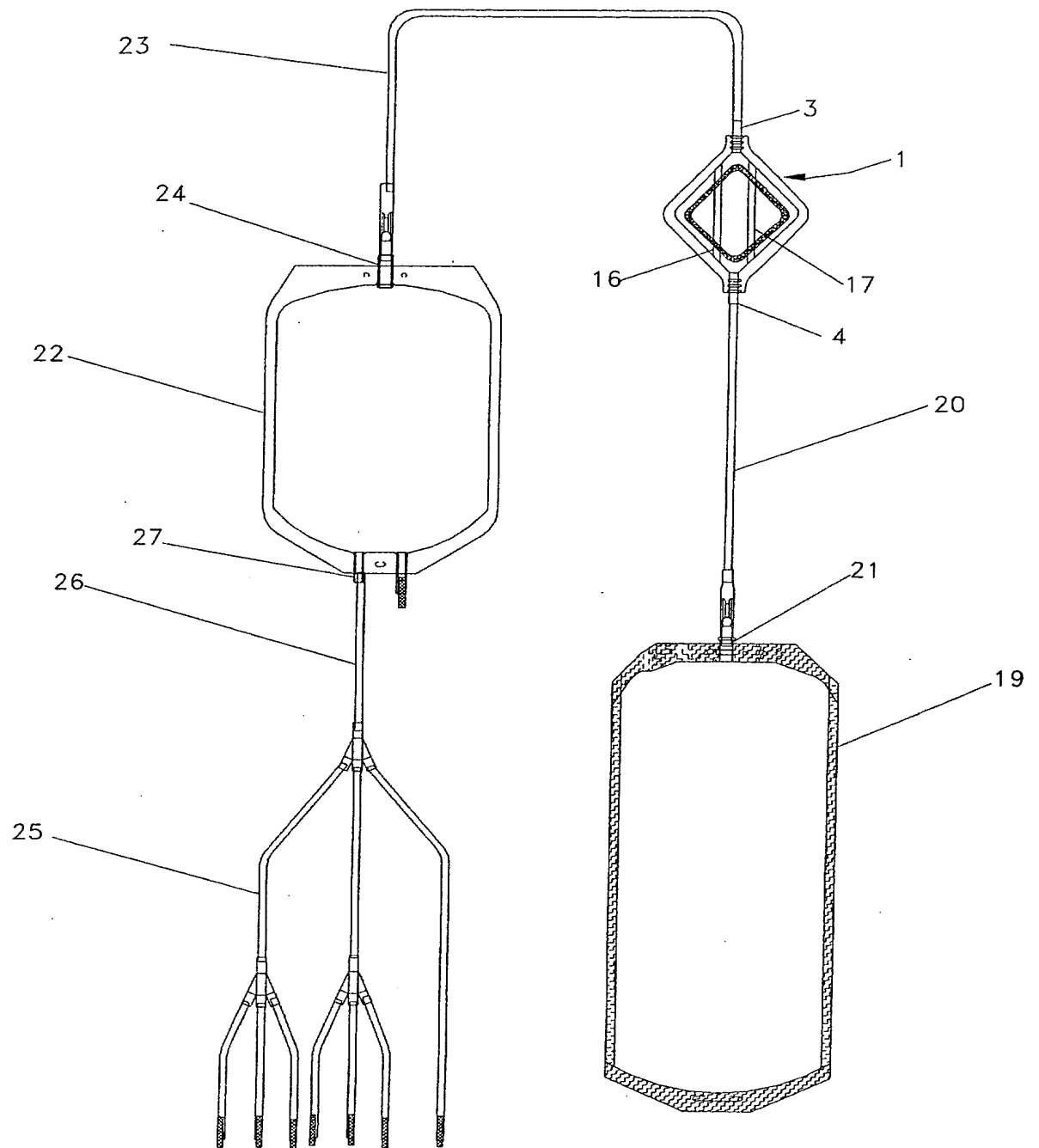
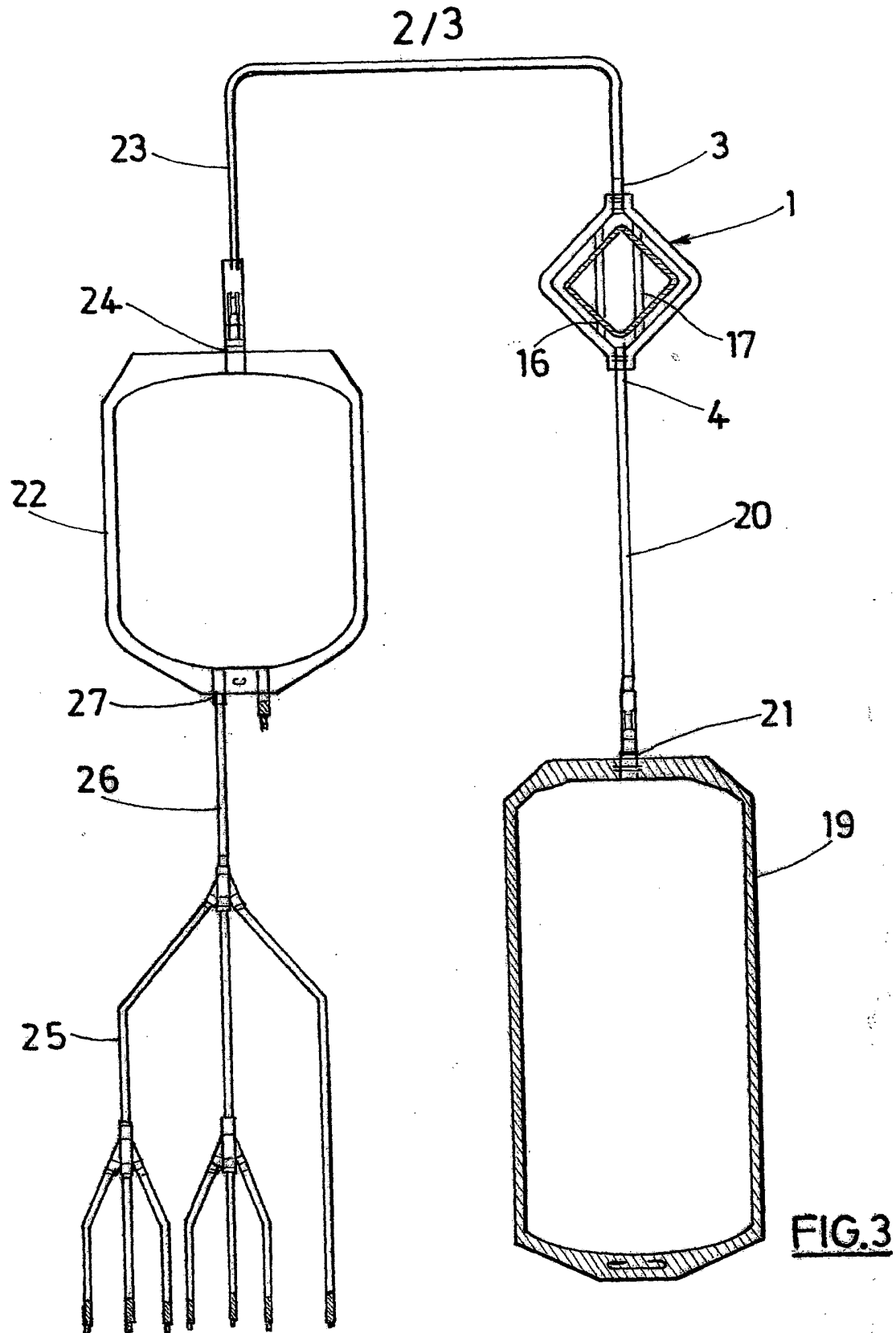


Fig. 3



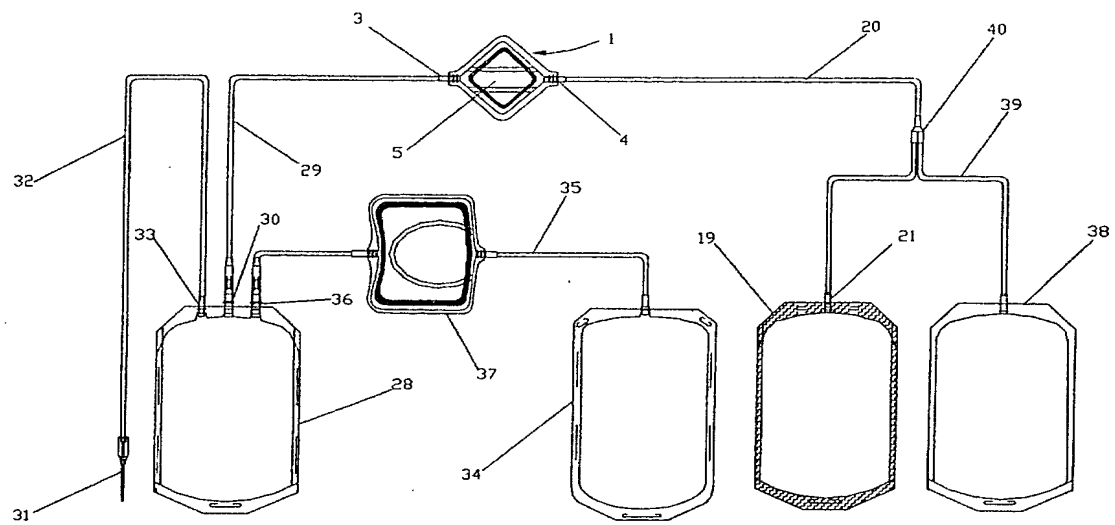


Fig. 4

3/3

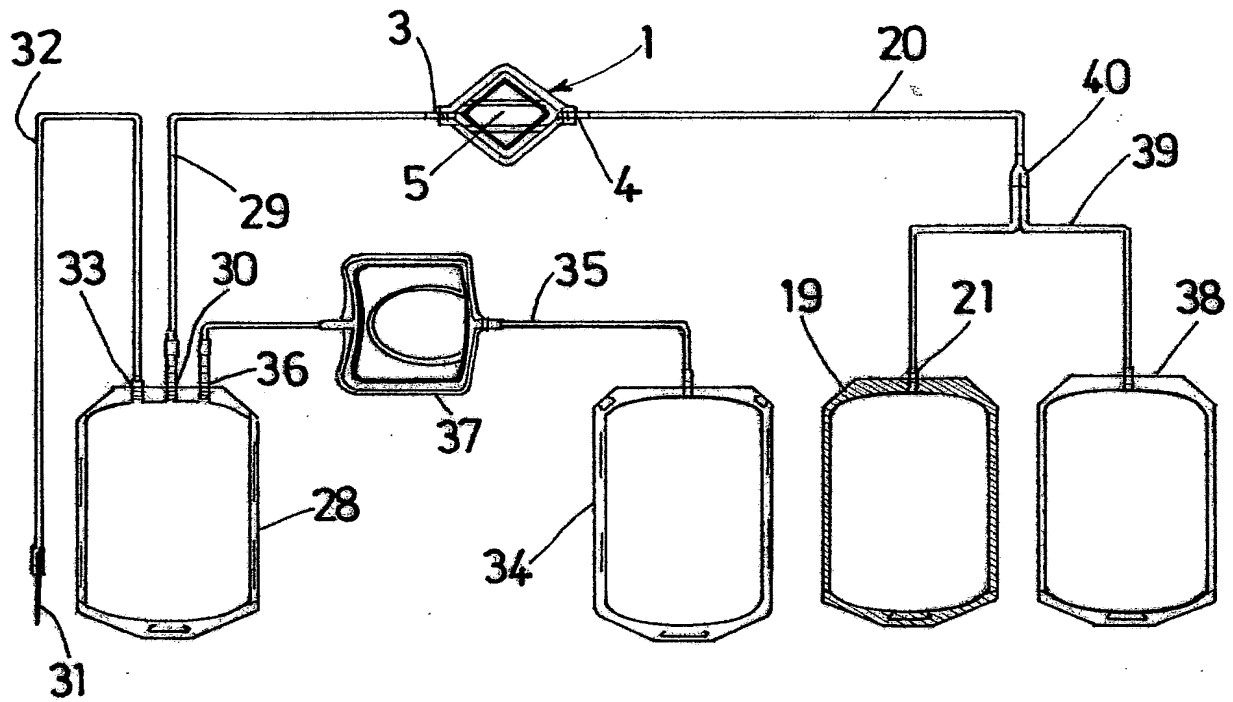


FIG.4